昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*, December 2013, 56(12): 1489 - 1508　　ISSN 0454-6296

基于新一代测序技术的昆虫转录组学研究进展

张棋麟，袁明龙*
（草地农业生态系统国家重点实验室，兰州大学草地农业科技学院，兰州 730020）

摘要：新一代测序技术具有快速、高通量和低成本的特点，为"组学"研究带来了新方法、新方案，正在深刻地改变着当前生物学的研究模式。近年来，新一代测序技术极大促进了昆虫特别是无参考基因组信息昆虫的转录组学研究。自 2008 年至今，采用新一代测序技术已对 7 个目的 68 种昆虫进行了转录组测序，其中由我国学者完成了 6 个目的 22 种昆虫的转录组测序。目前，昆虫转录组学研究主要集中在基因挖掘、分子标记开发、基因表达分析等方面，为全面揭示昆虫生命活动中相关基因功能、系统发生与进化以及昆虫与其他生物相互作用等奠定了基础。本文总结了当前昆虫转录组学研究的已有成果，分析了其今后的发展趋势，讨论了采用新一代测序技术开展昆虫转录组学研究中存在的诸如研究对象相对局限、测序准确性不够高等不足，并指出开展昆虫转录组学研究时需充分思考所要回答的科学问题，选择合适的研究策略，评估性价比，以及开发转录组信息高效利用的方法等。作者建议未来的研究方向侧重于：(1)大规模开展基于新一代测序技术的昆虫转录组学研究，特别是对其他目以及独特生态环境中的代表性昆虫应予以重点关注；(2)开发昆虫转录组数据存储及分析的软硬件；(3)合理利用新一代测序技术研究昆虫转录组并充分挖掘已测昆虫转录组中的遗传信息。

关键词：昆虫；转录组；高通量测序；基因发掘；功能鉴定；基因表达
中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2013)12-1489-20

Progress in insect transcriptomics based on the next-generation sequencing technique

ZHANG Qi-Lin, YUAN Ming-Long* (State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, College of Pastoral Agricultural Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China)

Abstract: Next-generation sequencing (NGS) techniques provide the rapid, high-throughput and cost-effective approach to genomics research, which has profoundly transformed the research on current biology. In recent years, NGS has greatly promoted the development of insect transcriptomics, especially for insects without reference genome sequences. Since 2008, insect transcriptomes of 68 species belonging to seven orders have been sequenced by using NGS, of which 22 species from six orders were sequenced by Chinese scientists. Currently, insect transcriptomics based on NGS mainly focus on new gene discovery, development of molecular markers, and gene expression profiling, providing the opportunity to reveal gene function related to insect life activities, phylogeny and evolution, and the interaction between insects and other organisms. In this article, we summarized the current results of insect transcriptomics research, analyzed the development trends in the future, discussed the limitations of insect transcriptomics research based on NGS (*e. g.*, limited taxa, and relatively low-accuracy sequencing), and proposed what we need to keep in mind before launching insect transcriptomics studies, including specific scientific questions, appropriate research strategies, low-cost high performance, and efficient methods to utilize transcriptomic information. For the future prospects, we suggest that it is necessary: (1) to sequence more insect transcriptomes using NGS, paying significant attention to the typical insects from other insect orders and unique ecological environment; (2) to develop hardware and software for transcriptome data storage and analyses; and (3) to use NGS to study insect transcriptome with caution and take full advantage of the genetic information of sequenced insect transcriptome.

Key words: Insect; transcriptome; high-throughput sequencing; gene discovery; functional identification; gene expression

---

资金项目：国家自然科学基金项目(31201520)；高等学校博士学科点专项科研基金资助课题(20120211120043)；兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金项目(Lzujbky-2012-91)
作者简介：张棋麟，男，1988 年生，云南楚雄人，硕士研究生，研究方向为昆虫分子生态学，E-mail：qlzhang11@lzu.edu.cn
*通讯作者 Corresponding author, E-mail: yuanml@lzu.edu.cn
收稿日期 Received: 2013-07-09；接受日期 Accepted: 2013-11-24

新一代测序技术(next-generation sequencing, NGS),又称为高通量测序技术(high-throughput sequencing),其最突出的特点是单次运行产出序列数据量大(Schuster, 2008; Ansorge, 2009)。自2005年新一代测序技术问世以来(Margulies *et al.*, 2005),基因组学、转录组学、代谢组学等"组学"研究越来越受到研究者的青睐。从单细胞生物到高等动植物,从基因挖掘、功能鉴定到适应性进化等不同尺度上开展了广泛研究。新一代测序技术的兴起,为"组学"研究带来了新方法、新方案,已广泛应用于动植物全基因组测序(Simakov *et al.*, 2012; Zhang Q *et al.*, 2012; Dong *et al.*, 2013)、基因组重测序(Xia *et al.*, 2009)、转录组测序(Mercer *et al.*, 2011)、小 RNA(small RNA, sRNA)测序(Ozsolak and Milos, 2011)和表观基因组测序(Xiang *et al.*, 2010)等方面,深刻地改变了当前生物学的研究模式(Schuster, 2008)。此外,为适应新一代测序技术的普遍使用而带来的海量基因组数据分析,近年来生物信息学发展也非常快速,并取得显著进展,一系列针对高通量测序数据分析的软件相继被开发应用(McKenna *et al.*, 2010; Wei *et al.*, 2011; Keeling *et al.*, 2012)。

尽管新一代测序技术具有快速、高效、经济等优点,但对于大多数生物而言,由于重视程度不够,经费资助力度小,全基因组测序仍相对困难(De Wit *et al.*, 2012)。为此,研究者针对这些生物提出了简化基因组的测序策略,如 Genotyping-by-Sequencing (Elshire *et al.*, 2011)、CroPS (Van Orsouw *et al.*, 2007)和 RAD-Tag (Hohenlohe *et al.*, 2010)等。这些方法为从全基因组的水平鉴定变异位点提供了高效的途径,但这些方法获得的位点分散于整个基因组,且通常位于非编码区,所以通常不能提供包含这些变异位点所在序列的功能信息。另一类简化基因组测序的策略,就是转录组测序(Guell *et al.*, 2009)。转录组是指某一生理条件下,细胞内所有转录产物(包括 mRNA, rRNA, tRNA 及 nRNA)的集合(Wang *et al.*, 2009)。Jones 等(2012)对棘鱼(Acanthodii)的研究发现,60% 的适应性位点位于蛋白质编码区,而40% 的适应性位点位于基因调控区。因此,转录组测序专注于功能位点,且能够代表基因组中大多数适应性位点,已成为基因发掘、功能鉴定、基因表达、遗传多样性及适应性进化等研究的强大工具。

昆虫除具有极高的物种多样性外,经过亿万年的长期进化,其行为、生理及遗传多样性在整个生物界都是最高的(http://en.wikipedia.org/wiki/Insect),且对不同生态环境具有极强的适应能力。近年来,新一代测序技术已成为基础及应用昆虫学研究的最重要的手段之一,越来越多的研究通过转录组测序来揭示昆虫的形态、生理、行为及发育等对环境适应、进化的遗传机制。本文基于详细、全面的文献调研,综述了新一代测序技术在昆虫转录组研究中的应用现状及已有研究成果,讨论了昆虫转录组研究的优势和不足、以及开展昆虫转录组研究前需要充分思考的问题,并对今后基于新一代测序技术昆虫转录组学的主要研究方向及重点进行了展望。

1 昆虫转录组学研究概况

20 世纪 90 年代中期,几乎同时发明了两种转录组学研究方法,即 DNA 微阵列(DNA microarray)(Lockhart *et al.*, 1996)和基因表达系列分析(serial analysis of gene expression, SAGE)(Velculescu *et al.*, 1995),其基础分别是 Northern 杂交和表达序列标签(expressed sequence tags, ESTs)测序技术。这两种方法也最早用来研究黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 和家蚕 *Bombyx mori* 发育相关基因的表达调控(Anholt *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2005),黑腹果蝇也因此成为首个进行转录组学研究的昆虫。

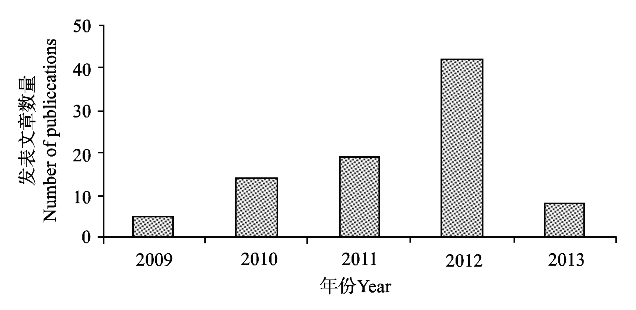


图1 近 5 年基于新一代测序技术的昆虫转录组发表文章数量

Fig. 1 Number of publications concerning insect transcriptomes based on the next-generation sequencing (NGS) in the past 5 years

"新一代 DNA 测序技术"名称最早出现在 2008 年 1 月的《Nature Methods》期刊中,由 Rusk 和 Kiermer 提出(Rusk and Kiermer, 2008)。以"next-generation and sequencing"作为关键词,在 NCBI 的 PubMed 数据库中可检索到 4 260 篇(截止 2013 年 3 月)相关研究论文。5 年时间内,几乎每天有 2 篇与新一代测序技术相关的论文问世,其中不少发表

在《Science》和《Nature》等著名刊物上，这充分表明新一代测序技术已成为当今科学研究的关键技术之一。新一代测序技术的出现，为更多昆虫“组学”研究提供了可能，极大促进了昆虫转录组学研究。Vera 等(2008)运用 Roche 454 高通量测序技术首先对庆网蛱蝶 *Melitaea cinxia* 的转录组进行了测序，成为首例从头组装无参考基因组信息昆虫转录组数据的研究范例，拉开了基于新一代测序技术昆虫转录组研究序幕。Gibbons 等(2009)率先采用高通量测序平台 Illumina 对冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 和埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 的转录组进行测序，并评估组装后的数据，证实在非模式昆虫中利用短读长开展转录组学研究是可行的，短读长测序平台所得数据的质量与长读长测序平台的一样可靠。Malone 和 Oliver(2011)采用 Illumina 对拟暗果蝇 *D. pseudoobscura* 的转录组进行测序并进行基因表达研究，通过与微阵列下基因表达的比较，证实了新一代测序技术对基因表达研究是完全可靠的。

基于新一代测序技术的昆虫转录组研究文献呈逐年递增的趋势，2012 年发表论文数多达 42 篇(图 1)。目前，采用新一代测序技术已对 7 个目的 68 种昆虫进行了转录组测序，共发表 89 篇论文。我国学者在利用新一代测序技术研究昆虫转录组上起步相对较晚，但进展较快，2010 年以来对东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 等 6 个目、22 种昆虫进行了转录组研究，发表论文 31 篇(表 1)。无参考基因组信息的昆虫转录组研究大多采用 Roche 454 完成(表 1)，究其原因是大多昆虫缺乏参考基因组信息，测序读长越长，对测序片段组装越有利。因此，平均读长 500 bp 的 Roche 454 测序平台成了无参考基因组信息昆虫转录组研究的首选。

昆虫转录组数据的获得，可以捕获低表达的基因、以前未知的编码和非编码 RNA 的种类，还可对 sRNA 进行分析等(Etebari *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2012)。此外，对不同生长发育、不同生境条件下或不同种类的昆虫样品进行转录组测序，不仅可以获得大量功能基因信息以及差异表达基因，还可获得转录本表达丰度、转录发生位点、可变剪接和转录本 SNP 等重要信息(Kappe *et al.*, 2001; Anholt *et al.*, 2003; Ranz *et al.*, 2003; Domazet-Lošo and Tautz, 2010; Xu *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012; Zhang Y *et al.*, 2012)。特别是一些重要昆虫，如黑腹果蝇、家蚕和赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 的研究为昆虫遗传学、生理生化、生长发育、基因表达及代谢调控等研究提供了范式，其他众多昆虫的研究都是基于这些重要昆虫的研究成果来制定研究策略，并进行数据分析(Jaeger *et al.*, 2012)。尽管黑腹果蝇作为昆虫生物学及遗传学研究的重要物种已广泛得到共识，但赤拟谷盗和家蚕作为重要昆虫亦日益受到关注。除了具有更大的基因组、更丰富的遗传信息外，这 2 种昆虫还与人类生产、生活等密切相关。目前，针对这 3 种重要昆虫进行的转录组相关研究，共发表 29 篇论文，其中基于新一代测序技术的有 9 篇(表 1)。因此，从 RNA“组学”水平研究昆虫，对阐明昆虫对环境的适应性、昆虫生长发育机理以及昆虫不同分类阶元间的系统发生与遗传关系等均具有重要意义。

2　昆虫转录组学研究进展

2.1　分子标记的开发

基于新一代测序技术的昆虫转录组学研究，为昆虫分子标记的开发提供了丰富的遗传学资源(Gayral *et al.*, 2011)。目前，基于昆虫转录组数据进行分子标记开发的研究报道已有 11 篇，主要涉及单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)和微卫星(simple sequence repeats, SSRs)。Schwarz 等(2009)最先采用新一代测序技术开展昆虫分子标记开发研究，获得了至少 40 000 个 SNPs 位点和 100 个 SSRs 位点。Van Belleghem 等(2012)基于 Illumina 发掘到盐沼甲虫 *Pogonus chalceus* 的 38 141 个 SNPs 位点。Cook 等(2011)利用 Roche 454 对叶蜂 *Dolerus aeneus* 转录组进行测序，获得了上千个可用于该虫种群遗传学研究的 SSRs 位点。Comeault 等(2012)利用 Roche 454 对矮竹节虫 *Timema cristinae* 进行转录组测序，发掘到大量 SSRs 位点和 SNPs 位点。Bai 等(2010)利用新一代测序技术以不同生物类型蚜虫(大豆蚜 *Aphis glycines* B1 和 B2)的转录组为对象，鉴别了 635 个 SNPs 位点和 1 382 个 SSRs 位点。采用 Roche 454 对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Pascual *et al.*, 2012)、豆荚螟 *Maruca vitrata* (Margam *et al.*, 2011)、珠弄蝶 *Erynnis propertius* (O'Neil *et al.*, 2010)、择丽凤蝶 *Papilio zelicaon* (O'Neil *et al.*, 2010)、红珠灰蝶 *Lycaeides argyrognomon* (Gompert *et al.*, 2010)和庆网蛱蝶(Vera *et al.*, 2008)6 种鳞翅目昆虫进行转录组测序，发掘到了大量具有潜在应用价值的 SNPs 位点。

表 1 基于新一代测序技术的昆虫转录组研究概况

Table 1 Transcriptomics studies of insects using the next-generation sequencing techniques

目 Order	种 Species	主要研究内容 Main research content	测序平台 Platform	完成国 Country	参考文献 References
直翅目 Orthoptera	东亚飞蝗 *Locusta migratoria*	中枢神经系统典型基因的鉴定 Identification of representative genes of the central nervous system	Illumina	中国 China	Zhang ZY *et al*., 2012
		飞蝗型变发育过程中的转录组特性分析 *De novo* analysis of transcriptome dynamics in the migratory locust during the development of phase traits	Illumina	中国 China	Chen *et al*., 2010
		大规模逆转录因子分析 Large-scale analysis of retroelements	Illumina	中国 China	Jiang *et al*., 2012
	中华稻蝗 *Oxya chinensis*	生长发育相关基因挖掘 Discovery of genes related to development	Illumina	中国 China	吕红娟, 2012
竹节虫目 Phasmida	矮竹节虫 *Timema cristinae*	分子标记开发及遗传分化推论 Development of molecular markers and inference of genetic divergence	Roche 454	美国 USA	Comeault *et al*., 2012
	Micrarchus nov. sp.	冷响应基因的鉴定 Identification of cold-responsive genes	Roche 454	新西兰 New Zealand	Dunning *et al*., 2013
半翅目 Hemiptera	白背飞虱 *Sogatella furcifera*	携带水稻病毒时基因表达分析 Gene expression analysis of *S. furcifera* in response to rice virus	Roche 454	中国 China	Xu *et al*., 2012
	白蜡蚧 *Ericerus pela*	蜡合成相关基因表达 Expression of genes related to wax synthesis	Illumina	中国 China	Yang *et al*., 2012
	黑面叶蝉 *Graminella nigrifrons*	转录组分析及与病毒传播互作的分子机制 Transcriptome of *G. nigrifrons* and the molecular interactions of virus transmission	Illumina	中国 China	Chen *et al*., 2012
	褐飞虱 *Nilaparvata lugens*	代谢相关基因挖掘与表达 Discovery and expression of genes related to metabolism	Roche 454	中国 China	Bao *et al*., 2012
		中肠的营养、代谢、吸收相关基因表达 Expression of genes related to nourishment, metabolism and absorption in midgut	Roche 454	中国 China	Peng *et al*., 2011
		同发育、翅二型性和性别差异相关的基因表达 Mechanisms responsible for the development, wing dimorphism and sex difference	Illumina	中国 China	Xue *et al*., 2010
	灰飞虱 *Laodelphax striatellus*	与病毒互作相关基因表达 Expression of genes related to virus	Roche 454	中国 China	Zhang *et al*., 2010

续表 1 Table 1 continued

目 Order	种 Species	主要研究内容 Main research content	测序平台 Platform	完成国 Country	参考文献 References
	突角长蝽 *Oncopeltus fasciatus*	主要的保守后生动物信号通路基因和一些早期发育进程相关基因 Genes of major conserved metazoan signaling pathways and genes involved in several major categories of early developmental processes	Roche 454	美国 USA	Ewen-Campen *et al.*, 2011
	美洲牧草盲蝽 *Lygus lineolaris*	代谢和发育信息的描述 Characterization of messages in metabolism and development	Roche 454	美国 USA	Magalhaes *et al.*, 2013
	豆荚草盲蝽 *Lygus hesperus*	非生物逆境机制 Mechanisms of abiotic stress responses	Roche 454	美国 USA	Hull *et al.*, 2013
	蚕豆微叶蝉 *Empoasca fabae*	从分子水平对唾液组分鉴别及唾液腺特异基因挖掘 Identification of existence of saliva composition at the molecular level and discovery of distinctive genes in salivary glands	Roche 454	美国 USA	DeLay *et al.*, 2012
	#豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum*	转录组对专性共生菌反应 Responses of transcriptome to infection by facultative symbionts	Illumina	美国 USA	Burke and Moran, 2011
	#温带臭虫 *Cimex lectularius*	鉴定潜在的抗药性相关基因 Identify potential genes involved in pesticide resistance	Roche 454	中国 China	Bai *et al.*, 2011
		抗药基因挖掘 Discovery of genes related to insecticide resistance	Roche 454	美国 USA	Mamidala *et al.*, 2012
		鉴定同拟除虫菊酯抗性相关的分子标记 Identification of molecular markers associated with pyrethroid resistance	Roche 454	中国 China	Zhu F *et al.*, 2013
	马铃薯木虱 *Bactericera cockerelli*	虫体对寄生细菌反应时转录物分析 Transcriptome analyses of response to bacterium infection	Illumina	美国 USA	Nachappa *et al.*, 2012
	大豆蚜 *Aphis glycines*	SNPs 和微卫星标记开发 Development of SNPs and microsatellite markers	Roche 454 和 Illumina	中国 China	Bai *et al.*, 2010
		该虫与共生真菌互作相关基因表达 Expression of gene related to interaction between the insect and symbiotic fungus	Illumina	中国 China	Liu *et al.*, 2012
	#烟粉虱 *Bemisia tabaci*	系统发育及基因表达 Phylogeny and gene expression	Roche 454	英国 UK	Seal *et al.*, 2012

续表 1　Table 1 continued

目 Order	种 Species	主要研究内容 Main research content	测序平台 Platform	完成国 Country	参考文献 References
		主要腺体功能、序列相似性研究和转录组分析 Functions of the primary glands, sequence similarity search and analysis of the whole transcriptome	Illumina	中国 China	Su *et al*., 2012
		转录组比较分析揭示两个入侵种的抗药基因和同各自特点相关的分子机制 Comparative analysis of transcriptome to reveal the insecticide resistance and molecular mechanisms associated with their specific characteristics for two invasive species	Illumina	中国 China	Wang *et al*., 2011
		细菌共生与抗药基因挖掘 Bacterial symbiosis and discovery of genes related to insecticide resistance	Roche 454	中国 China	Xie *et al*., 2012
鞘翅目 Coleoptera	白蜡窄吉丁 *Agrilus planipennis*	入侵昆虫中肠和脂肪体消化、解毒和防御基因表达 Expression of genes related to digestion, detoxification and defence in invasive insects	Roche 454	美国 USA	Mittapalli *et al*., 2010
		气味加工相关基因鉴定 Identification of odor-processing genes	Roche 454	美国 USA	Mamidala *et al*., 2013
	#赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*	对腐烂损伤免疫基因的表达分析 Transcriptome analysis of septic-injury responsive genes	Illumina	德国 Germany	Altincicek *et al*., 2013
	黄粉虫 *Tenebrio molitor*	蛹对寄生虫感染后转录组水平的免疫反应 Transcriptomic immune response of pupae to parasitization	Illumina	中国 China	Zhu JY *et al*., 2013
	黄曲条跳甲 *Phyllotreta striolata*	行为及生殖发育相关基因的挖掘 Discovery of genes related to behavior and reproductive development	Illumina	中国 China	贺华良等, 2012
	※孟氏隐唇瓢虫 *Cryptolaemus montrouzieri*	抗药基因挖掘 Discovery of genes related to insecticide resistance	Roche 454	中国 China	Zhang Y *et al*., 2012
	盐沼甲虫 *Pogonus chalceus*	翅多态性 SNP 发掘 SNP discovery in the wing polymorphism	Illumina	比利时 Beigium	Van Belleghem *et al*., 2012
	山松甲虫 *Dendroctonus ponderosae*	主要信息素组分代谢通路中相关酶的鉴定和特性分析 Identification and characterization for enzymes involved in metabolic pathways of major pheromone components	Roche 454	加拿大 Canada	Keeling *et al*., 2012
	粪金龟 *Onthophagus taurus*	基因挖掘 Gene discovery	Roche 454	美国 USA	Choi *et al*., 2010
	白杨叶甲 *Chrysomela tremulae*	利用焦磷酸测序中肠转录组揭示新的基因家族 Pyrosequencing of the midgut transcriptome reveals new gene families	Roche 454	英国 UK	Pauchet *et al*., 2009

续表 1 Table 1 continued

目 Order	种 Species	主要研究内容 Main research content	测序平台 Platform	完成国 Country	参考文献 References
	云南切梢小蠹 *Tomicus yunnanensis*	揭示同抗药性相关基因和同环境压力相关的热激蛋白基因 Revealing a large number of genes related to insecticide resistance and heat shock protein genes associated with environmental stress	Illumina	中国 China	Zhu *et al.*, 2012
双翅目 Diptera	#拟暗果蝇 *Drosophila pseudoobscura*	基于微阵列和深度测序下的转录组数据评估 Microarrays, deep sequencing and the true measure of the transcriptome	Illumina	美国 USA	Malone and Oliver, 2011
	#黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	全面的转录组图谱构建 Generating an extensive map of transcriptome	Illumina	美国 USA	Daines *et al.*, 2010
		转录本调控，剪接和 RNA 编辑 Regulation of transcription, splicing and RNA editing	Illumina	美国 USA	Graveley *et al.*, 2011
		生长发育因子的调控机制 Regulation mechanism of developmental and growth factors	Illumina	中国 China	Hou *et al.*, 2012
		不同生物钟下大脑转录组分析 Circadian and diurnal transcriptome of *Drosophila* brain	Illumina	美国 USA	Hughes *et al.*, 2012
		可变剪接的鉴别和 mRNA 定位 Identification of alternative splicing and localization of mRNA	Illumina	美国 USA	Wang *et al.*, 2012
	#埃及伊蚊 *Aedes aegypti*	评估短读长转录组序列在基因组学研究中的实用性 Evaluating utility of short-read transcriptome sequencing for genomic studies	Illumina	美国 USA	Gibbons *et al.*, 2009
		对污染物及杀虫剂响应后的转录组分析 Transcriptome response to pollutants and insecticides	Solexa	法国 France	David *et al.*, 2010
	#冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*	评估短读长转录组序列在非模式生物基因组学研究中的实用性 Evaluating utility of short-read transcriptome sequencing for genomic studies of non-model organisms	Illumina	美国 USA	Gibbons *et al.*, 2009
		通过化学受体转录组揭示气味基因编码中的组织和性别特异差别 Transcriptome profiling of chemosensory appendages reveals tissue- and sex-specific signatures of odor coding	Illumina	美国 USA	Pitts *et al.*, 2011
	不吉按蚊 *Anopheles funestus*	利用从头组装转录组序列促进基因组规模的实验生物学研究 *De novo* transcriptome sequencing to facilitate genome-scale experimental biology	Illumina	美国 USA	Crawford *et al.*, 2010

续表 1 Table 1 continued

目 Order	种 Species	主要研究内容 Main research content	测序平台 Platform	完成国 Country	参考文献 References
	白纹伊蚊 *Aedes albopictus*	滞育基因的挖掘 Discovery of diapause gene	Roche 454	美国 USA	Poelchau *et al.*, 2011
	亚洲稻瘿蚊 *Orseolia oryzae*	与寄主互作机制 Mechanism of interaction with host	Roche 454	印度 India	Sinha *et al.*, 2012
	桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*	抗药性及利用电子基因表达文库研究生长发育相关基因表达 Insecticide resistance and gene expression related to development and growth using digital gene expression libraries	Illumina	中国 China	Shen *et al.*, 2011; Hsu *et al.*, 2012; Zheng *et al.*, 2012
	肥须亚麻蝇 *Sarcophaga crassipalpis*	利用大规模平行焦磷酸测序进行基因挖掘用于 ESTs 开发 Gene discovery using massively parallel pyrosequencing to develop ESTs	Roche 454	美国 USA	Hahn *et al.*, 2009
	苹果实蝇 *Rhagoletis pomonella*	分布区重叠处生态物种形成 Sympatric ecological speciation	Roche 454	美国 USA	Schwarz *et al.*, 2009
	加勒比按实蝇 *Anastrepha suspensa*	EST 文库构建 Producing an EST database	Roche 454	美国 USA	Nirmala *et al.*, 2013
	※黑带食蚜蝇 *Episyrphus balteatus*	胚胎时期骨形态发生蛋白信号因子 Signaling components of bone morphogenetic proteins in embryonic transcriptomes	Roche 454	美国 USA	Lemke *et al.*, 2011
	丝光绿蝇 *Lucilia sericata*	选择性剪接和 SNPs 预测 Prediction of alternative splicing and SNPs	Roche 454	美国 USA	Sze *et al.*, 2012
	#螺旋锥蝇 *Cochliomyia hominivorax*	抗药基因挖掘 Discovery of genes related to insecticide resistance	Roche 454	法国 France	Carvalho *et al.*, 2010
鳞翅目 Lepidoptera	#家蚕 *Bombyx mori*	昆虫脂肪体细胞对不同培养条件响应的转录组学分析 Transcriptome responses of insect fat body cells to culture environment	Illumina	日本 Japan	Ogata *et al.*, 2012
		揭示选择性剪接和反式剪接事件 Alternative splicing and *trans*-splicing events revealed by analysis of transcriptome		中国 China	Shao *et al.*, 2012
		通过转录组分析家蚕与杆状病毒动态交互作用 Dynamic interactions between *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus and its host cells revealed by transcriptome analysis		中国 China	Xue *et al.*, 2012

续表 1 Table 1 continued

目 Order	种 Species	主要研究内容 Main research content	测序平台 Platform	完成国 Country	参考文献 References
	稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis*	同发育调控、行为和抗药性相关基因表达 Gene expression of developmental regulation, behavior and insecticide resistance	Illumina	中国 China	Li *et al*., 2012b
	釉蛱蝶 *Heliconius melpomene*	翅发育模式相关基因表达 Expression of genes related to mimetic wing patterns	Roche 454	英国 UK	Ferguson *et al*., 2010
	择丽凤蝶 *Papilio zelicaon*	种群水平上的转录组研究 Population-level transcriptome sequencing	Roche 454	美国 USA	O'Neil *et al*., 2010
	珠弄蝶 *Erynnis propertius*	种群水平上的转录组研究 Population-level transcriptome sequencing	Roche 454	美国 USA	O'Neil *et al*., 2010
	庆网蛱蝶 *Melitaea cinxia*	SNPs 发现和基因芯片开发 Discovery of SNPs and development of oligonucleotide microarray probes	Roche 454	美国 USA	Vera *et al*., 2008
	豆荚螟 *Maruca vitrata*	SNPs 预测 Prediction of SNPs	Roche 454	美国 USA	Margam *et al*., 2011
	二化螟 *Chilo suppressalis*	中肠抗 Bt 毒蛋白相关基因表达 Expression of genes related to Bt toxalbumin in midgut	Illumina	中国 China	Ma *et al*., 2012
	粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni*	疫苗细胞基质安全性评估 Safety evaluation of vaccine cell substrates	Roche 454	美国 USA	Onions *et al*., 2011
	红珠灰蝶 *Lycaeides argyrognomon*	种群遗传结构 Population genetic structure	Roche 454	美国 USA	Gompert *et al*., 2010
	六星灯蛾 *Zygaena filipendulae*	生氰糖苷酶合成基因的挖掘 Discovery of genes related to cyanogentic glycosides	Roche 454	丹麦 Denmark	Zagrobelny *et al*., 2009
	棉铃虫 *Helicoverpa armigera*	对转录组注释序列进行生化过程、细胞组分和分子功能分析 The annotated sequences were classified including their biological process, cellular component and molecular function	Solexa	中国 China	Li *et al*., 2012a
	苹果蠹蛾 *Cydia pomonella*	化学感应受体鉴定 Identification of chemosensory receptor	Roche 454	意大利 Italy	Bengtsson *et al*., 2012
	甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*	ESTs 文库的构建 Construction of the largest public set of ESTs	Roche 454	西班牙 Spain	Pascual *et al*., 2012

续表 1 Table 1 continued

目 Order	种 Species	主要研究内容 Main research content	测序平台 Platform	完成国 Country	参考文献 References
	#小菜蛾 *Plutella xylostella*	抗药基因挖掘 Discovery of genes related to insecticide resistance	Illumina	中国 China	He *et al*., 2012
	大蜡螟 *Galleria mellonella*	不同生长发育阶段转录组及免疫基因表达 Transcriptome of different developmental stages and expression of immune-genes	Roche 454	德国 Germany	Vogel *et al*., 2011
	舞毒蛾 *Lymantria dispar*	与 RNA 和 DNA 病毒相关转录物鉴别 Identification of a diverse array of both RNA and DNA virus-associated transcripts	Roche 454	美国 USA	Sparks and Gundersen-Rindal, 2011
	烟草天蛾 *Manduca sexta*	中肠中消化、解毒、防御信息 Messages for digestion, detoxification and defence in midgut	Roche 454	英国 UK	Pauchet *et al*., 2010
		昆虫嗅觉分子机制 Molecular mechanism of insect olfactory	Roche 454	德国 Germany	Grosse-Wilde *et al*., 2011
	印度谷螟 *Plodia interpunctella*	性别剂量补偿相关基因表达 Expression of genes related to gender dosage compensation	Illumina	英国 UK	Harrison *et al*., 2012
	玉米夜蛾 *Helicoverpa zea*	病毒感染后基因表达及同病毒互作相关基因表达微阵列平台构建 Gene expression after virus-infection and development of microarray platform related to interaction with virus	Illumina	澳大利亚 Australia	Nguyen *et al*., 2012
	Striacosta albicosta	SNP 与基因发掘 Discovery of SNPs and genes	Illumina	美国 USA	Miller *et al*., 2012
膜翅目 Hymenoptera	阿根廷蚁 *Linepithema humile*	基因组 Genome	Roche 454 Illumina	美国 USA	Smith *et al*., 2011
	加勒比疯蚁 *Nylanderia pubens*	生物防治效果评估 Effect evaluation of biological control	Roche 454	美国 USA	Valles *et al*., 2012
	欧洲熊蜂 *Bombus terrestris*	授花粉器的不同发育阶段下基因表达分析 Analysis of gene expression in the life stages of the key pollinator	Roche 454	爱尔兰 Ireland	Colgan *et al*., 2011
	叶蜂 *Dolerus aeneus*	分子标记开发 Development of molecular markers	Roche 454	英国 UK	Cook *et al*., 2011
	中华蜜蜂 *Apis cerana cerana*	工蜂劳动分工及蜜蜂卵巢发育相关基因表达分析 Expression analysis of genes related to work specialization in worker bees and ovarian development of bees	Illumina	中国 China	刘亭亭, 2012

※天敌昆虫 Natural enemy insect; #完成全基因组测序的昆虫 Insect with the whole genome sequenced.

2.2　行为生态学研究

昆虫的行为及其发生机制一直是国际研究热点之一（Guo *et al.*，2011），目前已有 5 篇昆虫转录组文献涉及昆虫行为生态学研究。飞蝗具有“群居”和“散居”两种生态型，是研究昆虫行为生态学的良好模式。深入研究飞蝗从“散居”到“群居”的型变机制，有助于将其种群数量控制在发生“型变”的临界值以下，避免型变发生，从而达到生态防治飞蝗的目的（Wang and Kang，2014）。

Chen 等（2010）采用 Illumina 对东亚飞蝗转录组进行测序发现，散居型蝗虫在涉及代谢及生物合成相关的通路上有更高活性，而群居型蝗虫则在涉及环境信息相关的通路上有更高活性。Badisco 等（2011）与 Zhang ZY 等（2012）分别对沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 及东亚飞蝗的中枢神经系统进行了转录组学研究，获得了大量同中枢神经系统信号转导、神经元发育以及变态和型变相关的神经调控基因，发现飞蝗的型变不依赖于点突变，而与激素相关代谢通路的变化相关。对 5 龄蝗蝻和成虫进行转录组测序，发现逆转录因子表达模式的变化直接影响飞蝗种群的型变（Jiang *et al.*，2012）。

2.3　生长发育相关基因的挖掘与表达

昆虫生长发育具有快速发育和蜕皮变态的特征，多数昆虫在数周之内体重增加约 10 000 倍。快速生长发育导致取食需求量的增大，而昆虫通过变态发育获得更强的生存和移动能力，加重了对农作物的危害。研究参与昆虫发育过程中的基因表达及调控机制，不仅有利于揭示变态发育机制，亦为遗传学防治害虫提供思路与基础。随着分子生物学的进步，许多与变态发育相关的基因被陆续鉴定，但是生长发育及变态是个很复杂的生物学过程，仅针对少量基因的研究无法全面阐释变态发育机制。近年来，新一代测序技术的发展及其在昆虫转录组学研究中的广泛应用，为大规模深度解析昆虫生长发育及变态过程中相关基因的活动提供了可能。目前，共有 25 篇昆虫转录组文献涉及生长发育和变态研究。

Graveley 等（2011）对黑腹果蝇不同发育时期转录组进行了测序，获得数千个基因，构建了黑腹果蝇个体转录组图谱，发现大量参与黑腹果蝇生长发育的可变剪接事件。Daines 等（2011）采用黑腹果蝇 10 个生长发育时期的转录组数据，对 10 余个基因进行了新的注释，发掘 31% 的基因同该果蝇生长发育关系密切并存在可变剪接现象。Wang 等（2012）采用 Illumina 研究了黑腹果蝇肌肉的发育过程，鉴别了几百个与肌肉发育相关基因的可变剪接事件。Shao 等（2012）采用 Illumina 研究了家蚕在不同发育阶段及不同组织中的基因表达调控，发现数千个选择性剪接事件及 58 个转录剪接事件。

采用 Roche 454 对肥须亚麻蝇 *Parasarcophaga crassipalpis* 和黑带食蚜蝇 *Episyrphus balteatus* 进行转录组测序，获得了与生长发育相关的基因（Hahn *et al.*，2009；Lemke *et al.*，2011）。采用 Roche 454 对加勒比按实蝇 *Anastrepha suspensa*（Nirmala *et al.*，2013）和丝光绿蝇 *Lucilia sericata*（Sze *et al.*，2012）开展了胚胎发生、细胞死亡及性别决定相关基因表达调控的研究。Mittapalli 等（2010）和 Mamidala 等（2013）分别采用 Roche 454 对入侵害虫白蜡窄吉丁 *Agrilus planipennis* 进行转录组测序，挖掘到与消化和嗅觉相关的基因。Choi 等（2010）利用 Roche 454 对粪金龟 *Onthophagus taurus* 进行转录组测序，挖掘生殖发育相关的新基因。贺华良等（2012）采用 Illumina 对黄曲条跳甲 *Phyllotreta striolata* 转录组测序，对其行为及发育相关基因进行挖掘。

生物体性别差异导致两性性染色体上相关基因表达不一致，因此需要基因拷贝数目增加以弥补这种差异。但是 Harrison 等（2012）采用 Illumina 对鳞翅目昆虫印度谷螟 *Plodia interpunctella* 雌雄成虫转录组测序，并与家蚕基因组比较分析后发现鳞翅目雌性昆虫性染色体基因缺少剂量补偿。采用 Roche 454 对烟草天蛾 *Manduca sexta* 的触角神经叶和中肠进行转录组测序，发掘到大量与嗅觉系统及免疫系统发育相关的基因（Pauchet *et al.*，2010；Grosse-Wilde *et al.*，2011）。来自美国和芬兰的学者相互合作，采用 Roche 454 对来自不同家系的庆网蛱蝶转录组测序，并根据测序数据自主设计了基因芯片，以检测不同家系单头庆网蛱蝶基因表达情况（Vera *et al.*，2008）。Ferguson 等（2010）以釉蛱蝶 *Heliconius melpomene* 为发育生物学模式材料，研究了鳞翅目昆虫翅发育相关基因的表达。Colgan 等（2011）和刘亭亭（2012）分别研究了欧洲熊蜂 *Bombus terrestris* 的授粉器和中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 的卵巢在不同生长发育时期基因的表达情况，前者还初步研究了授粉器官的发育对欧洲熊蜂社会分工的影响。

非全变态昆虫的研究相对较少，集中在半翅目和直翅目的 6 个物种。Ewen-Campen 等（2011）对突角长蝽 *Oncopeltus fasciatus* 进行了信号通路基因

及早期发育进程相关基因的挖掘。Magalhaes 等(2013)对美洲牧草盲蝽 *Lygus lineolaris* 的代谢和发育信息进行了描述。Yang 等(2012)研究了对灌木危害严重的蚧科昆虫白蜡蚧 *Ericerus pela* 蜡合成相关基因的表达，以期了解其相关基因在该虫生长发育中的作用机制。Xue 等(2010)采用 Illumina 对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 进行转录组测序，获得了 8 526 个功能基因，并发现不同发育阶段、翅二型性以及不同性别的基因表达谱均存在显著差异。Chen 等(2010)采用 Illumina 对东亚飞蝗转录组进行测序，获得了飞蝗大量关键基因集合，并采用比较基因组学的方法，鉴定出 18 个变态发育相关基因。吕红娟(2012)对中华稻蝗 *Oxya chinensis* 成虫和若虫转录组分别测序，通过差异表达基因的分析，发现参与生殖代谢通路、昆虫生理节律调控、核酸复制与转录、蛋白质翻译与加工修饰的相关基因都发生了不同程度的上调和下调。

2.4 昆虫对非生物逆境的响应

昆虫对非生物逆境(如低温、农药等)的响应和适应，一直是昆虫生态学研究的重要内容。昆虫对非生物逆境适应性的高低，对其种群的生存和发展至关重要。昆虫对非生物逆境的响应通常源于不同基因家族的共同作用，新一代测序技术为从转录组水平上开展昆虫对非生物逆境响应机制提供了强大工具。目前，基于新一代测序技术的昆虫转录组研究，主要涉及昆虫对低温和农药等两种非生物逆境的适应性研究。

昆虫对低温响应的研究，共发表研究论文 3 篇。Poelchau 等(2011)利用 Roche 454 获得了白纹伊蚊 *Aedes albopictus* 与滞育相关的转录物，分析了该虫应对严寒的相关基因表达模式。Dunning 等(2013)采用 Roche 454 对新西兰阿尔卑斯竹节虫 *Micrarchus* nov. sp. 开展了转录组测序，解析了 3 个冷响应基因在低温下的多种表达模式。Hull 等(2013)采用 Roche 454 对豆荚草盲蝽 *Lygus hesperus* 进行转录组测序，研究了该虫不同家族热激蛋白基因的表达模式。

抗药性作为研究生物对环境适应进化的重要科学问题，长期以来引起了人们的广泛重视。近年来，杀虫剂的大量、广泛、持续使用不可避免地导致了昆虫抗药性的快速发展，各种害虫对人类和作物的威胁日益加重，造成了重大经济损失。因此，昆虫抗药性研究一直是国际昆虫学研究领域的热点之一。基于新一代测序技术的昆虫转录组测序，为昆虫抗药性研究带来了重大变革，已发表相关研究论文 29 篇。

鞘翅目昆虫是较早采用新一代测序技术从“组学”水平上开展抗药性研究的类群。Pauchet 等(2009)采用 Roche 454 研究了白杨叶甲 *Chrysomela tremulae* 中肠的转录组，鉴定了苏云金芽孢杆菌的毒蛋白受体，同时发现该虫抗药性的增强与 P450 基因表达过量有关。Zhang Y 等(2012)对杀虫剂作用下的孟氏隐唇瓢虫 *Cryptolaemus montrouzieri* 及对照分别进行转录组测序，发现处理组有 993 个基因显著上调或下调。Keeling 等(2012)应用 Roche 454 对北美特有的山松甲虫 *Dendroctonus ponderosae* 进行转录组测序，发现该虫的 P450 基因家族至少由 78 个成员组成。Zhu 等(2012)采用 Illumina 对云南省林地特有的重大害虫云南切梢小蠹 *Tomicus yunnanensis* 进行转录组测序，预测并注释了 219 个与抗药性代谢通路相关的基因。

双翅目昆虫抗药性研究以蚊蝇类为主。对施药后的埃及伊蚊进行转录组测序，鉴定到了与抗药性相关的基因(David *et al*., 2010)。Carvalho 等(2010)对螺旋锥蝇 *Cochliomyia hominivorax* 抗药基因进行挖掘，鉴定出了涉及 3 个解毒代谢家族通路中的 8 个备选基因。Shen 等采用 Illumina 对桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 进行转录组测序，获得了 49 804个 Unigenes，分析了该虫不同生长发育时期的基因表达情况，并评估了不同生长发育时期该虫的抗药能力(Shen *et al*., 2011; Hsu *et al*., 2012; Zheng *et al*., 2012)。

温带臭虫 *Cimex lectularius* 属于半翅目臭虫科(Cimicidae)，以吸食人血、兔血等为生，而抗药性的快速发展是其难以有效防治的重要原因之一。Bai 等(2011)、Mamidala 等(2012)和 Zhu F 等(2013)分别利用 Roche 454 对温带臭虫进行转录组测序，挖掘其抗药性相关基因。Bredenoord 等(2013)采用 Roche 454 对烟粉虱 *Bemisia tabaci* 抗性种群与敏感种群分别进行转录组测序，发现细胞色素 P450 基因在抗性种群中过量表达。Peng 等(2011)和 Bao 等(2012)分别采用 Roche 454 对褐飞虱小肠特异转录组和中肠转录组进行了测序分析，揭示并鉴别了部分潜在的与消化、解毒和抗药性相关的功能基因。Wang 等(2011)采用 Illumina 对入侵型的烟粉虱进行转录组测序，并同土著型烟粉虱进行比较分析，发现大量与抗药性相关的基因受到正选择作用。DeLay 等(2012)对蚕豆微叶蝉

Empoasca fabae 唾液腺的转录组进行研究，挖掘了唾液中同抗药性相关的特异基因。

刘莹等(2012)对 5 种鳞翅目昆虫的转录组数据进行生物信息学分析，鉴定出了 13 种与抗药性相关的基因，发现 P450 基因的数量最多。采用 Illumina 对二化螟 *Chilo suppressalis* 中肠组织进行转录组测序，鉴别到大量与抗 BT 毒蛋白相关的功能基因(Ma *et al*., 2012)。Li 等(2012a)通过 Solexa 对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫转录组进行了测序，获得了 37 352 条 contigs，鉴定到了数个可进行 RNA 干扰的备选抗药性靶基因。Li 等(2012b)采用 Solexa 对稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* 进行转录组测序，对抗药性相关基因进行了表达分析。He 等(2012)也采用类似的方法通过小菜蛾 *Plutella xylostella* 转录组挖掘抗药相关的基因。Ogata 等(2012)采用 Illumina 对组织培养技术获得的家蚕脂肪体细胞和自然条件下的家蚕脂肪体细胞分别进行转录组测序，比较分析了两种条件下产生的家蚕脂肪体细胞中同抗药性相关基因的表达情况。

膜翅目昆虫抗药性相关研究仅有两例。Smith 等(2011)和 Valles 等(2012)分别对在美国为害严重的膜翅目昆虫阿根廷蚁 *Linepithema humile* 和加勒比疯蚁 *Nylanderia pubens* 的基因组和转录组进行了测序，挖掘了其同抗药性相关的基因，并评估了生物防治对加勒比疯蚁基因表达的影响。

2.5 昆虫与其他生物互作研究

昆虫与其他生物的相互作用关系是普遍存在的(Stout *et al*., 2006)。基于新一代测序技术研究昆虫与其他生物的互作机制，已发表 16 篇相关研究论文，主要涉及昆虫与寄主植物的互作，昆虫与病原物及寄生性天敌的互作，以及昆虫与共生菌的互作 3 个方面的研究内容。

昆虫与寄主植物的互作研究。采用 Roche 454 对六星灯蛾 *Zygaena filipendulae* 转录组测序，对其破坏植物细胞壁时分泌的生氰糖苷合成酶相关基因进行了挖掘(Zagrobelny *et al*., 2009)。Sinha 等(2012)采用 Roche 454 对与水稻亲和的亚洲稻瘿蚊 *Orseolia oryzae* 幼虫和对水稻不亲和的幼虫分别进行转录组测序，比较了与蛋白质水解及磷酸化相关基因的表达模式。

昆虫与病原物及寄生性天敌的互作研究。Xue 等(2012)利用 Illumina 对经家蚕核型多角体病毒感染后 8 个时间点上的家蚕细胞系进行转录组测序，发现该病毒感染家蚕组织细胞后，细胞骨架、转录物、翻译相关蛋白、能量代谢、铁离子代谢和泛素蛋白等的代谢通路发生改变。Nguyen 等(2012)采用 Illumina 对玉米夜蛾 *Helicoverpa zea* 转录组进行了测序，研究了玉米夜蛾被核型多角体病毒感染后的基因表达情况。采用 Roche 454 对感染病毒的粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 细胞系进行转录组测序，探索适合培养病毒的活体细胞(Onions *et al*., 2011)。Chen 等(2012)采用 Illumina 获得玉米细条纹病毒(maize fine streak virus, MFSV)的介体昆虫黑面叶蝉 *Graminella nigrifrons* 的 ESTs，发现该虫携带病毒后其肽聚糖识别蛋白相关基因(peptidoglycan recognition proteins, PGRP)显著下调。采用 Roche 454 对舞毒蛾 *Lymantria dispar* 易感病毒细胞系(Sparks and Gundersen-Rindal, 2011)进行转录组测序，鉴别了舞毒蛾细胞系中同病毒感染相关的基因。Xu 等(2012)采用 Roche 454 获得了携带南方水稻黑条纹病毒(southern rice black-streaked dwarf virus, SRBSDV)的白背飞虱 *Sogatella furcifera* 和没有携带此病毒白背飞虱的转录组数据，从转录组水平上解析了白背飞虱对病毒感染响应的基因表达情况。烟粉虱唾液腺中的分泌蛋白同植物病毒传播有直接关系，通过 Illumina 对入侵烟粉虱和土著烟粉虱唾液腺转录产物进行测序，比较了健康烟草和感染病毒的烟草上发育的烟粉虱体内与生殖相关的基因表达水平的变化(Su *et al*., 2012)。管氏肿腿蜂 *Scleroderma guani* 是黄粉虫 *Tenebrio molitor* 的重要寄生天敌，对被肿腿蜂寄生的黄粉虫蛹及未被肿腿蜂寄生的蛹分别采用 Illumina 进行转录组测序，鉴定到黄粉虫的 430 个与防御相关的基因(Zhu JY *et al*., 2013)，该研究为昆虫与寄生性天敌的互作提供了一个研究范例。

昆虫与共生菌互作研究。Zhang 等(2010)利用 Roche 454 研究了带共生菌 *Wolbachia* 的灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 成虫和不带共生菌的灰飞虱若虫的转录组，获得了一系列涉及共生菌与灰飞虱互作的基因。Vogel 等(2011)利用 Roche 454 对不同生长阶段的大蜡螟 *Galleria mellonella* 的血液转录组测序，鉴别了大量与产生抗微生物多肽相关的基因，揭示了一些与共生菌相关的免疫反应机制。Liu 等(2012)基于新一代测序技术研究了大豆蚜的转录组，揭示了该虫与共生菌互作时相关基因的表达模式。Burke 和 Moran(2011)研究了豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 在受到专性共生菌侵染的过程中，该虫转录组对“外来者”的响应。Nachappa 等

(2012)以马铃薯木虱 *Bactericera cockerelli* 为研究对象，也开展了类似的昆虫-共生菌相互作用的研究。

3 问题与展望

近年来，DNA 测序技术正经历着快速的变革，测序技术发生了质的飞跃。新一代测序技术已以明显的优势为分子生物学和组学研究提供了一个崭新的平台和巨大的发展机遇。随着新一代测序技术的测序价格不断降低，势必将迎来基于新一代测序技术的生物学研究高峰。在近十年发表的 145 篇昆虫转录组学研究论文中(统计数据来自 Web of Science 数据库，时间截止 2013 年 3 月)，基于新一代测序技术的发文数量达 85 篇，是基于传统测序技术的近 2 倍。可见，新一代测序技术极大促进了昆虫转录组学的研究，进展相当迅速。然而，由于昆虫分布范围广、种类繁多、进化关系复杂、个体发育系统多样化，目前新一代测序技术及相关生物信息分析手段在昆虫转录组研究中还存在不少亟待解决的问题。第一，利用新一代测序技术进行转录组研究的昆虫种类仍较少，且研究类群比较局限；第二，转录组数据存放和共享还没有一个规范、统一的平台，利用生物信息学分析转录组数据仍然相对滞后；第三，面临着当前昆虫转录组学需要开展大规模研究的现状，不少研究人员盲目追求转录组测序，其中会产生一些缺陷，甚至是隐患。因此，今后昆虫转录组研究应重点开展以下研究。

3.1 利用新一代测序技术大规模开展昆虫转录组学研究

2011 年，有“昆虫曼哈顿工程”之称的 5 000 种昆虫及其他节肢动物基因组计划(i5k)正式启动，该项目旨在测序并分析与农业生产、食品安全及医药等相关的所有重要昆虫的全基因组(Robinson *et al.*, 2011)。i5k 计划的实施，有助于更好地开展昆虫生物学研究，为保护植物免受害虫侵袭开辟了新的研究视角，最终将极大提升我们有效管理害虫的能力。自 2000 年黑腹果蝇全基因组测序以来，共有豌豆蚜、赤拟谷盗、冈比亚按蚊、家蚕、小菜蛾、西方蜜蜂 *Apis mellifera* 等 5 个目的 25 种昆虫完成了全基因组测序工作(http://www.genomesonline.org/)。相反，基于新一代测序技术的昆虫转录组学研究进展较快，已对 7 个目的 68 种昆虫进行了转录组研究。已测转录组昆虫的数量远多于已测基因组的数量，使得“组学”之间失去固有的联系，不利于遗传信息的挖掘。随着 i5k 计划的实施，未来将有大量昆虫基因组得以解析，而以基因组信息作为参考，昆虫转录组测序工作将会更加快速、便捷和准确，两个“组学”的数据将会呈交替爆发式增长。例如，利用昆虫基因组挖掘大量与抗药性相关的基因，再结合转录组进行抗药基因功能研究，能够加深对昆虫抗药性机制的理解，建立昆虫抗药性模式，更好地研发新型农药。此外，如 RNA 编辑、基因表达调控、DNA 和 RNA 间的内在机制等亦将会得到更加全面的解析。总之，未来昆虫转录组测序必将随着 i5k 计划同步发展，高通量的全基因组和转录组之间的比较分析，为深入理解昆虫的进化、生长发育以及其种间、种内关系等提供大量遗传学线索，从而带动昆虫“组学”步入新的阶段。

目前，基于新一代测序技术已对 7 个目的 68 种昆虫进行了转录组学相关研究(表 1)，但这仅占上百万种昆虫中的极小一部分。尽管针对四大目(鳞翅目、鞘翅目、膜翅目和双翅目)均开展了转录组学研究，但每个目中已研究种类最多亦不过十余种。特别是，绝大多数昆虫目还未开展转录组相关研究。目前，除黑腹果蝇等重要昆虫外，已研究的类群主要集中在医学昆虫、资源昆虫和农林业害虫，其比例约为 90%。此外，很多生存于独特的生态环境(如南北两极、青藏高原、海底火山和沙漠等)中的昆虫，具有独特的生物生态学特性，它们在长期的进化过程中对极端生态环境(如高寒、缺氧、干旱、高温等)具有高度适应性，是研究生物适应性进化的良好材料。深入研究这类昆虫的生态及进化过程和机制，有助于人类加深对特殊极端生态环境的认识和理解，可为人类未来的生存与发展提供帮助。因此，有必要采用新一代测序技术对生态昆虫开展转录组学研究，对独特或极端生态环境中的代表性昆虫应予以重点关注，这不仅有助于深入理解生态昆虫的系统进化、生物地理格局及适应性进化机制，还能为区域内生态系统中的害虫防治提供理论依据。

3.2 开发昆虫转录组数据分析的生物信息学软硬件并建立用于存放和共享高通量转录组数据的系统规范网络平台

新一代测序技术的高通量性能使得我们能够快速获得海量数据，但如何对这些测序数据进行存放、分析和利用，是我们当前面临的一大挑战。目前，通过生物信息学对昆虫转录组数据进行功能基因的挖掘、调控元件的分析、抗药基因的鉴定和农

药靶标基因开发的能力仍相对不足。从昆虫转录组数据的产生、储存、分析、挖掘、表现角度看，生物信息学在转录组数据分析中的运用仍然相对滞后。

基于新一代测序技术的转录组数据具有数据量大、涵盖物种多样化的特点，数据的提交、存储已成一大难题，亦是限制数据共享的关键因素。目前，还缺乏一个系统的、专门的转录组数据库，各种生物的转录组数据无法集中存储和利用。少部分转录组数据提交存储在 NCBI 的高通量短读长数据库（short read archive，SRA）中，而相当一部分转录组数据仍未提交或存储到了其他数据库。在存放转录组数据的高通量数据存储库中也包含例如基因组数据这样的其他序列数据，而这种情形不利于研究数据的收集及系统规模化的生物信息学分析。因此，要开发性能良好、运算速度与高通量测序数据分析相匹配的计算机服务器，实验人员与生物信息中心开发人员要加强团队合作，不断简化生物信息分析方法，并建立一个专门化的转录组数据库，库中转录组数据再根据研究对象分门别类，这将使得基于新一代测序技术的转录组学研究（例如基于新一代测序技术下的转录组数据构建系统发育树及推算物种分歧时间等）更加高效、方便。

3.3 合理利用新一代测序技术并充分利用昆虫转录组信息价值

新一代测序技术虽然具有传统测序望尘莫及的通量高、测序速度快和成本相对低的优势，但其本身也存在诸多不足。第一，新一代测序技术获得的序列读长通常较短，这给复杂、重复序列的正确、高效组装带来了很大麻烦，这种情况在无参考基因组信息的物种中更为明显。第二，新一代测序技术在研究基因表达时具有组织特异性，但该技术目前还不适合于单细胞的基因表达研究（Wolf，2013）。第三，由于基于新一代测序技术的转录组学研究，其研究材料是单链的 mRNA，因此由不同链上编码的重叠基因的转录物无法有效区分，给基因的注释和挖掘带来了困难。第四，mRNA 仅仅是基因表达过程的中间体，因此基于新一代测序技术的基因表达水平的变化研究，并不一定是蛋白质水平上变化的真实反应。第五，新一代测序技术本质还是基于 PCR 的测序，但 PCR 过程中无法避免错配，所以其对于结果的正确性还是有影响（Wolf，2013）。更重要的是，对于昆虫学研究而言，我们不仅仅要关注诸如新一代测序这类技术手段，更应重视利用新一代测序技术研究转录组时所要回答的科学问题，应尽量避免“为测而测”的盲目性。因此，新一代测序技术并不是转录组研究中的“万能手”，在解决很多科学问题的过程中应该合理评估、充分了解各种技术手段，选择最适策略开展实验，加强生理生态学模型的建立，不宜仅仅测序。否则，在花费大量财力和劳力获得大量数据的情况下，也达不到预期研究目标。当前昆虫转录组测序成本并不算低，能用传统低成本方法解决的问题我们也可不必使用新一代测序技术平台。例如，从“组学”水平开展昆虫自然种群的分子生态学、种群遗传学和谱系地理学研究的费用还相当之高，因为这些研究往往需对数十个种群、数百个昆虫个体（包括不同虫态）样本进行转录组测序。特别值得指出的是，基于新一代测序的昆虫转录组研究已经有大量的数据，但部分研究者获得大量数据后，并没有充分挖掘和利用转录组信息。相反，我们应最大程度利用这些数据，从横向、纵向两方面深入挖掘其中的遗传学信息，避免信息资源的浪费。

总之，转录组作为后基因组时代的产物，是功能基因组研究的两大分支之一。整合基于新一代测序技术的转录组数据，必将为认知生物本质提供有价值的信息。利用新一代测序技术开展昆虫转录组学研究，不但促进了农业害虫防治、生物进化、昆虫谱系地理学、药物开发、疾病防治等研究，同时也可以促进其他生物及相关学科的发展。尽管新一代测序技术在自身技术层面上还存在以上提到的诸多问题，但毫无疑问，随着新一代测序技术测序成本的下降、生物信息理论的发展及遗传学工具的研发，昆虫转录组研究将进入全新的发展阶段，必将革新经典昆虫学研究手段，并从根本上改变我们对昆虫生物学现象的传统认识。此外，速度更快、精度更高及通量更高的更新一代的单分子测序平台的开发及推广应用，必将更进一步推动昆虫转录组学及相关研究。

参考文献（References）

Altincicek B, Elashry A, Guz N, Grundler FMW, Vilcinskas A, Dehne HW, 2013. Next generation sequencing based transcriptome analysis of septic-injury responsive genes in the beetle *Tribolium castaneum*. *PLoS ONE*, 8: e52004.

Anholt RRH, Dilda CL, Chang S, Fanara JJ, Kulkarni NH, Ganguly I, Rollmann SM, Kamdar KP, Mackay TF, 2003. The genetic architecture of odor-guided behavior in *Drosophila*: epistasis and the transcriptome. *Nature Genetics*, 35: 180－184.

Ansorge WJ, 2009. Next-generation DNA sequencing techniques. *New*

Biotechnology, 25: 195 – 203.

Badisco L, Huybrechts J, Simonet G, Verlinden H, Marchal E, Huybrechts R, Schoofs L, De Loof A, Vanden Broeck J, 2011. Transcriptome analysis of the desert locust central nervous system: production and annotation of a *Schistocerca gregaria* EST database. *PLoS ONE*, 6: e17274.

Bai X, Mamidala P, Rajarapu SP, Jones SC, Mittapalli O, 2011. Transcriptomics of the bed bug (*Cimex lectularius*). *PLoS ONE*, 6: e16336.

Bai XD, Zhang W, Orantes L, Jun TH, Mittapalli O, Mian MAR, Michel AP, 2010. Combining next-generation sequencing strategies for rapid molecular resource development from an invasive aphid species, *Aphis glycines*. *PLoS ONE*, 5: e11370.

Bao YY, Wang Y, Wu WJ, Zhao D, Xue J, Zhang BQ, Shen ZC, Zhang CX, 2012. *De novo* intestine-specific transcriptome of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* revealed potential functions in digestion, detoxification and immune response. *Genomics*, 99: 256 – 264.

Bengtsson JM, Trona F, Montagne N, Anfora G, Ignell R, Witzgall P, Jacquin-Joly E, 2012. Putative chemosensory receptors of the codling moth, *Cydia pomonella*, identified by antennal transcriptome analysis. *PLoS ONE*, 7: e31620.

Bredenoord AL, de Vries MC, van Delden JJM, 2013. Next-generation sequencing: does the next generation still have a right to an open future? *Nature Reviews Genetics*, 14: 306 – 306.

Burke GR, Moran NA, 2011. Responses of the pea aphid transcriptome to infection by facultative symbionts. *Insect Molecular Biology*, 20: 357 – 365.

Carvalho RA, Azeredo-Espin AML, Torres TT, 2010. Deep sequencing of New World screw-worm transcripts to discover genes involved in insecticide resistance. *BMC Genomics*, 11: 695.

Chen S, Yang P, Jiang F, Wei Y, Ma Z, Kang L, 2010. *De novo* analysis of transcriptome dynamics in the migratory locust during the development of phase traits. *PLoS ONE*, 5: e15633.

Chen YT, Cassone BJ, Bai XD, Redinbaugh MG, Michel AP, 2012. Transcriptome of the plant virus vector *Graminella nigrifrons*, and the molecular interactions of *Maize fine streak rhabdovirus* transmission. *PLoS ONE*, 7: e40613.

Choi JH, Kijimoto T, Snell-Rood E, Tae H, Yang Y, Moczek AP, Andrews J, 2010. Gene discovery in the horned beetle *Onthophagus taurus*. *BMC Genomics*, 11: 703.

Colgan TJ, Carolan JC, Bridgett SJ, Sumner S, Blaxter ML, Brown MJF, 2011. Polyphenism in social insects: insights from a transcriptome-wide analysis of gene expression in the life stages of the key pollinator, *Bombus terrestris*. *BMC Genomics*, 12: 623.

Comeault AA, Sommers M, Schwander T, Buerkle CA, Farkas TE, Nosil P, Parchman TL, 2012. *De novo* characterization of the *Timema cristinae* transcriptome facilitates marker discovery and inference of genetic divergence. *Molecular Ecology Resources*: 549 – 561.

Cook N, Aziz N, Hedley PE, Morris J, Milne L, Karley AJ, Hubbard SF, Russell JR, 2011. Transcriptome sequencing of an ecologically important graminivorous sawfly: a resource for marker development. *Conservation Genetics Resources*, 3: 789 – 795.

Crawford JE, Guelbeogo WM, Sanou A, Traore A, Vernick KD, Sagnon N, Lazzaro BP, 2010. *De novo* transcriptome sequencing in *Anopheles funestus* using Illumina RNA-seq technology. *PLoS ONE*, 5: e14202.

Daines B, Wang H, Wang L, Li Y, Han Y, Emmert D, Gelbart W, Wang X, Li W, Gibbs R, Chen R, 2010. The *Drosophila melanogaster* transcriptome by paired-end RNA sequencing. *Genome Research*, 21: 315 – 324.

David JP, Coissac E, Melodelima C, Poupardin R, Riaz MA, Chandor-Proust A, Reynaud S, 2010. Transcriptome response to pollutants and insecticides in the dengue vector *Aedes aegypti* using next-generation sequencing technology. *BMC Genomics*, 11: 216.

De Wit P, Pespeni MH, Ladner JT, Barshis DJ, Seneca F, Jaris H, Therkildsen NO, Morikawa M, Palumbi SR, 2012. The simple fool's guide to population genomics via RNA-Seq: an introduction to high-throughput sequencing data analysis. *Molecular Ecology Resources*, 12: 1058 – 1067.

DeLay B, Mamidala P, Wijeratne A, Wijeratne S, Mittapalli O, Wang J, Lamp W, 2012. Transcriptome analysis of the salivary glands of potato leafhopper, *Empoasca fabae*. *Journal of Insect Physiology*, 58: 1626 – 1634.

Domazet-Lošo T, Tautz D, 2010. A phylogenetically based transcriptome age index mirrors ontogenetic divergence patterns. *Nature*, 468: 815 – 818.

Dong Y, Xie M, Jiang Y, Xiao N, Du X, Zhang W, Tosser-Klopp G, Wang J, Yang S, Liang J, Chen W, Chen J, Zeng P, Hou Y, Bian C, Pan S, Li Y, Liu X, Wang W, Servin B, Sayre B, Zhu B, Sweeney D, Moore R, Nie W, Shen Y, Zhao R, Zhang G, Li J, Faraut T, Womack J, Zhang Y, Kijas J, Cockett N, Xu X, Zhao S, Wang J, Wang W, 2013. Sequencing and automated whole-genome optical mapping of the genome of a domestic goat (*Capra hircus*). *Nature Biotechnology*, 31: 135 – 141.

Dunning LT, Dennis AB, Park DC, Sinclair BJ, Newcomb RD, Buckley TR, 2013. Identification of cold-responsive genes in a New Zealand alpine stick insect using RNA-Seq. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 8: 24 – 31.

Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE, 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*, 6: e19379.

Etebari K, Palfreyman RW, Schlipalius D, Nielsen LK, Glatz RV, Asgari S, 2011. Deep sequencing-based transcriptome analysis of *Plutella xylostella* larvae parasitized by *Diadegma semiclausum*. *BMC Genomics*, 12: 446.

Ewen-Campen B, Shaner N, Panfilio KA, Suzuki Y, Roth S, Extavour CG, 2011. The maternal and early embryonic transcriptome of the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus*. *BMC Genomics*, 12: 61.

Ferguson L, Lee SF, Chamberlain N, Nadeau N, Joron M, Baxter S, Wilkinson P, Papanicolaou A, Kumar S, Kee TJ, Clark R, Davidson C, Glithero R, Beasley H, Vogel H, Ffrench-Constant R,

Jiggins C, 2010. Characterization of a hotspot for mimicry: assembly of a butterfly wing transcriptome to genomic sequence at the *HmYb/Sb* locus. *Molecular Ecology*, 19: 240 –254.

Gayral P, Weinert L, Chiari Y, Tsagkogeorga G, Ballenghien M, Galtier N, 2011. Next-generation sequencing of transcriptomes: a guide to RNA isolation in nonmodel animals. *Molecular Ecology Resources*, 11: 650 –661.

Gibbons JG, Janson EM, Hittinger CT, Johnston M, Abbot P, Rokas A, 2009. Benchmarking next-generation transcriptome sequencing for functional and evolutionary genomics. *Molecular Biology and Evolution*, 26: 2731 –2744.

Gompert Z, Forister ML, Fordyce JA, Nice CC, Williamson RJ, Alex Buerkle C, 2010. Bayesian analysis of molecular variance in pyrosequences quantifies population genetic structure across the genome of *Lycaeides* butterflies. *Molecular Ecology*, 19: 2455 –2473.

Graveley BR, Brooks AN, Carlson J, Duff MO, Landolin JM, Yang L, Artieri CG, van Baren MJ, Boley N, Booth BW, Brown JB, Cherbas L, Davis CA, Dobin A, Li RH, Lin W, Malone JH, Mattiuzzo NR, Miller D, Sturgill D, Tuch BB, Zaleski C, Zhang DY, Blanchette M, Dudoit S, Eads B, Green RE, Hammonds A, Jiang LC, Kapranov P, Langton L, Perrimon N, Sandler JE, Wan KH, Willingham A, Zhang Y, Zou Y, Andrews J, Bickel PJ, Brenner SE, Brent MR, Cherbas P, Gingeras TR, Hoskins RA, Kaufman TC, Oliver B, Celniker SE, 2011. The developmental transcriptome of *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 471: 473 –479.

Grosse-Wilde E, Kuebler LS, Bucks S, Vogel H, Wicher D, Hansson BS, 2011. Antennal transcriptome of *Manduca sexta*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108: 7449 –7454.

Guell M, van Noort V, Yus E, Chen WH, Leigh-Bell J, Michalodimitrakis K, Yamada T, Arumugam M, Doerks T, Kuhner S, Rode M, Suyama M, Schmidt S, Gavin AC, Bork P, Serrano L, 2009. Transcriptome complexity in a genome-reduced bacterium. *Science*, 326: 1268 –1271.

Guo W, Wang XH, Ma ZY, Xue L, HanJY, YuD, Kang L, 2011. CSP and takeout genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase changeinthe migratory locust. *PLoS Genetics*, 7 : e1001291.

Hahn DA, Ragland GJ, Shoemaker DD, Denlinger DL, 2009. Gene discovery using massively parallel pyrosequencing to develop ESTs for the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis*. *BMC Genomics*, 10: 234.

Harrison PW, Mank JE, Wedell N, 2012. Incomplete sex chromosome dosage compensation in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, based on *de novo* transcriptome assembly. *Genome Biology and Evolution*, 4: 1118 –1126.

He HL, Bin SY, Wu ZZ, Lin JT, 2012. Transcriptome characteristics of *Phyllotreta striolata* (Fabricius) (Coleoptera: chrysomelidae) analyzed by using Illumina's Solexa sequencing technology. *Acta Entomologica Sinica*, 55: 1 –11. [贺华良，宾淑英，吴仲真，林进添，2012. 基于Solexa高通量测序的黄曲条跳甲转录组学研究. 昆虫学报，55: 1 –11]

He W, You M, Vasseur L, Yang G, Xie M, Cui K, Bai J, Liu C, Li X, Xu X, Huang S, 2012. Developmental and insecticide-resistant insights from the *de novo* assembled transcriptome of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Genomics*, 99: 169 –177.

Hohenlohe P, Bassham S, Etter P, Stiffler N, Johnson E, Cresko W, 2010. Population genomics of parallel adaptation in threespine stickleback using sequenced RAD tags. *PLoS Genetics*, 6: e1000862.

Hou D, Ruiz M, Andrulis ED, 2012. The ribonuclease Dis3 is an essential regulator of the developmental transcriptome. *BMC Genomics*, 13: 359.

Hsu JC, Chien TY, Hu CC, Chen MJ, Wu WJ, Feng HT, Haymer DS, Chen CY, 2012. Discovery of genes related to insecticide resistance in *Bactrocera dorsalis* by functional genomic analysis of a *de novo* assembled transcriptome. *PLoS ONE*, 7: e40950.

Huang JH, Miao XX, Jin WR, Couble P, Mita K, Zhang Y, Liu WB, Zhuang LJ, Shen Y, Keime C, Gandrillon O, Brouilly P, Briolay J, Zhao GP, Huang YP, 2005. Serial analysis of gene expression in the silkworm, *Bombyx mori*. *Genomics*, 86: 233 –241.

Hughes ME, Grant GR, Paquin C, Qian J, Nitabach MN, 2012. Deep sequencing the circadian and diurnal transcriptome of *Drosophila* brain. *Genome Research*, 22: 1266 –1281.

Hull JJ, Geib SM, Fabrick JA, Brent CS, 2013. Sequencing and *de novo* assembly of the western tarnished plant bug (*Lygus hesperus*) Transcriptome. *PLoS ONE*, 8: e55105.

Jaeger PA, Doherty C, Ideker T, 2012. Modeling transcriptome dynamics in a complex world. *Cell*, 151: 1161 –1162.

Jiang F, Yang M, Guo W, Wang X, Kang L, 2012. Large-scale transcriptome analysis of retroelements in the migratory locust, *Locusta migratoria*. *PLoS ONE*, 7: e40532.

Jones FC, Grabherr MG, Chan YF, Russell P, Mauceli E, Johnson J, Swofford R, Pirun M, Zody MC, White S, Birney E, Searle S, Schmutz J, Grimwood J, Dickson MC, Myers RM, Miller CT, Summers BR, Knecht AK, Brady SD, Zhang H, Pollen AA, Howes T, Amemiya C, Lander ES, Di Palma F, Lindblad-Toh K, Kingsley DM, 2012. The genomic basis of adaptive evolution in threespine sticklebacks. *Nature*, 484: 55 –61.

Kappe SH, Gardner MJ, Brown SM, Ross J, Matuschewski K, Ribeiro JM, Adams JH, Quackenbush J, Cho J, Carucci DJ, Hoffman SL, Nussenzweig V, 2001. Exploring the transcriptome of the malaria sporozoite stage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 9895 –9900.

Keeling CI, Henderson H, Li M, Yuen M, Clark EL, Fraser JD, Huber DPW, Liao NY, Docking TR, Birol I, Chan SK, Taylor GA, Palmquist D, Jones SJM, Bohlmann J, 2012. Transcriptome and full-length cDNA resources for the mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins, a major insect pest of pine forests. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 42: 525 –536.

Lemke S, Antonopoulos DA, Meyer F, Domanus MH, Schmidt-Ott U, 2011. BMP signaling components in embryonic transcriptomes of the hover fly *Episyrphus balteatus* (Syrphidae). *BMC Genomics*, 12: 278.

Li J, Li X, Chen Y, Yang Z, Guo S, 2012a. Solexa sequencing based

transcriptome analysis of *Helicoverpa armigera* larvae. *Molecular Biology Reports*, 39: 11051 – 11059.

Li SW, Yang H, Liu YF, Liao QR, Du J, Jin DC, 2012b. Transcriptome and gene expression analysis of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis*. *PLoS ONE*, 7: e47401.

Liu SJ, Chougule NP, Vijayendran D, Bonning BC, 2012. Deep sequencing of the transcriptomes of soybean aphid and associated endosymbionts. *PLoS ONE*, 7: e45161.

Liu TT, 2012. *De novo* Sequencing of Transcriptome and Gene Expression Analysis of Females Honybees in *Apis cerana cerana*. MSc Thesis, Jiangxi Agricultural University, Nanchang. [刘亭亭, 2012. 中华蜜蜂转录组测序及雌性蜜蜂基因表达分析. 南昌: 江西农业大学硕士学位论文]

Liu Y, Wang N, Zhang Z, Li F, 2012. Application of transcriptome in insect resistance research. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49: 317 – 323. [刘莹, 王娜, 张赞, 李飞, 2012. 五种鳞翅目害虫中抗药性相关基因的转录组学分析. 应用昆虫学报, 49: 317 – 323]

Lockhart DJ, Dong H, Byrne MC, Follettie MT, Gallo MV, Chee MS, Mittmann M, Wang C, Kobayashi M, Norton H, 1996. Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nature Biotechnology*, 14: 1675 – 1680.

Lv HJ, 2012. Comparative Transcriptome Research between Nymph and Adult in *Oxya chinensis* and Mapping Mitochondrial Tanscriptome. MSc Thesis, Shaanxi Normal University, Xi'an. [吕红娟, 2012. 中华稻蝗若虫和成虫转录组的比较研究及线粒体转录组作图. 西安: 陕西师范大学硕士学位论文]

Ma W, Zhang Z, Peng C, Wang X, Li F, Lin Y, 2012. Exploring the midgut transcriptome and brush border membrane vesicle proteome of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker). *PLoS ONE*, 7: e38151.

Magalhaes LC, van Kretschmar JB, Donohue KV, Roe RM, 2013. Pyrosequencing of the adult tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*, and characterization of messages important in metabolism and development. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 146: 364 – 378.

Malone JH, Oliver B, 2011. Microarrays, deep sequencing and the true measure of the transcriptome. *BMC Biology*, 9: 34.

Mamidala P, Wijeratne AJ, Wijeratne S, Kornacker K, Sudhamalla B, Rivera-Vega LJ, Hoelmer A, Meulia T, Jones SC, Mittapalli O, 2012. RNA-Seq and molecular docking reveal multi-level pesticide resistance in the bed bug. *BMC Genomics*, 13: 6.

Mamidala P, Wijeratne AJ, Wijeratne S, Poland T, Qazi SS, Doucet D, Cusson M, Beliveau C, Mittapalli O, 2013. Identification of odor-processing genes in the emerald ash borer, *Agrilus planipennis*. *PLoS ONE*, 8: e56555.

Margam VM, Coates BS, Bayles DO, Hellmich RL, Agunbiade T, Seufferheld MJ, Sun W, Kroemer JA, Ba MN, Binso-Dabire CL, Baoua I, Ishiyaku MF, Covas FG, Srinivasan R, Armstrong J, Murdock LL, Pittendrigh BR, 2011. Transcriptome sequencing, and rapid development and application of SNP markers for the legume pod borer *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae). *PLoS ONE*, 6: e21388.

Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA, Berka J, Braverman MS, Chen YJ, Chen Z, 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437: 376 – 380.

McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M, 2010. The genome analysis toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research*, 20: 1297 – 1303.

Mercer TR, Neph S, Dinger ME, Crawford J, Smith MA, Shearwood AM, Haugen E, Bracken CP, Rackham O, Stamatoyannopoulos JA, Filipovska A, Mattick JS, 2011. The human mitochondrial transcriptome. *Cell*, 146: 645 – 658.

Miller NJ, Sun J, Sappington TW, 2012. High-throughput transcriptome sequencing for SNP and gene discovery in a moth. *Environmental Entomology*, 41: 997 – 1007.

Mittapalli O, Bai X, Mamidala P, Rajarapu SP, Bonello P, Herms DA, 2010. Tissue-specific transcriptomics of the exotic invasive insect pest emerald ash borer (*Agrilus planipennis*). *PLoS ONE*, 5: e13708.

Nachappa P, Levy J, Tamborindeguy C, 2012. Transcriptome analyses of *Bactericera cockerelli* adults in response to "*Candidatus* Liberibacter solanacearum" infection. *Molecular Genetics and Genomics*, 287: 803 – 817.

Nguyen Q, Palfreyman RW, Chan LC, Reid S, Nielsen LK, 2012. Transcriptome sequencing of and microarray development for a *Helicoverpa zea* cell line to investigate in vitro insect cell-baculovirus interactions. *PLoS ONE*, 7: e36324.

Nirmala X, Schetelig MF, Yu FH, Handler AM, 2013. An EST database of the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Gene*, 517: 212 – 217.

Ogata N, Yokoyama T, Iwabuchi K, 2012. Transcriptome responses of insect fat body cells to tissue culture environment. *PLoS ONE*, 7: e34940.

O'Neil ST, Dzurisin JD, Carmichael RD, Lobo NF, Emrich SJ, Hellmann JJ, 2010. Population-level transcriptome sequencing of nonmodel organisms *Erynnis propertius* and *Papilio zelicaon*. *BMC Genomics*, 11: 310.

Onions D, Cote C, Love B, Toms B, Koduri S, Armstrong A, Chang A, Kolman J, 2011. Ensuring the safety of vaccine cell substrates by massively parallel sequencing of the transcriptome. *Vaccine*, 29: 7117 – 7121.

Ozsolak F, Milos PM, 2011. RNA sequencing: advances, challenges and opportunities. *Nature Reviews Genetics*, 12: 87 – 98.

Pascual L, Jakubowska AK, Blanca JM, Canizares J, Ferre J, Gloeckner G, Vogel H, Herrero S, 2012. The transcriptome of *Spodoptera exigua* larvae exposed to different types of microbes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 42: 557 – 570.

Pauchet Y, Wilkinson P, van Munster M, Augustin S, Pauron D, Ffrench-Constant RH, 2009. Pyrosequencing of the midgut transcriptome of the poplar leaf beetle *Chrysomela tremulae* reveals new gene families in Coleoptera. *Insect Biochemistry and Molecular*

Biology, 39: 403 – 413.

Pauchet Y, Wilkinson P, Vogel H, Nelson DR, Reynolds SE, Heckel DG, Ffrench-Constant RH, 2010. Pyrosequencing the *Manduca sexta* larval midgut transcriptome: messages for digestion, detoxification and defence. *Insect Molecular Biology*, 19: 61 – 75.

Peng X, Zha W, He R, Lu T, Zhu L, Han B, He G, 2011. Pyrosequencing the midgut transcriptome of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Molecular Biology*, 20: 745 – 762.

Pitts RJ, Rinker DC, Jones PL, Rokas A, Zwiebel LJ, 2011. Transcriptome profiling of chemosensory appendages in the malaria vector *Anopheles gambiae* reveals tissue- and sex-specific signatures of odor coding. *BMC Genomics*, 12: 271.

Poelchau MF, Reynolds JA, Denlinger DL, Elsik CG, Armbruster PA, 2011. A *de novo* transcriptome of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*, to identify candidate transcripts for diapause preparation. *BMC Genomics*, 12: 619.

Ranz JM, Castillo-Davis CI, Meiklejohn CD, Hartl DL, 2003. Sex-dependent gene expression and evolution of the *Drosophila* transcriptome. *Science*, 300: 1742 – 1745.

Robinson GE, Hackett KJ, Purcell-Miramontes M, Brown SJ, Evans JD, Goldsmith MR, Lawson D, Okamuro J, Robertson HM, Schneider DJ, 2011. Creating a buzz about insect genomes. *Science*, 331: 1386.

Rusk N, Kiermer V, 2008. Primer: sequencing – the next generation. *Nature Methods*, 5: 15.

Schuster SC, 2008. Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nature Methods*, 5: 16 – 18.

Schwarz D, Robertson HM, Feder JL, Varala K, Hudson ME, Ragland GJ, Hahn DA, Berlocher SH, 2009. Sympatric ecological speciation meets pyrosequencing: sampling the transcriptome of the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *BMC Genomics*, 10: 633.

Seal S, Patel MV, Collins C, Colvin J, Bailey D, 2012. Next generation transcriptome sequencing and quantitative real-time PCR technologies for characterisation of the *Bemisia tabaci* Asia 1 mtCOI phylogenetic clade. *Journal of Integrative Agriculture*, 11: 281 – 292.

Shao W, Zhao QY, Wang XY, Xu XY, Tang Q, Li M, Li X, Xu YZ, 2012. Alternative splicing and trans-splicing events revealed by analysis of the *Bombyx mori* transcriptome. *RNA*, 18: 1395 – 1407.

Shen GM, Dou W, Niu JZ, Jiang HB, Yang WJ, Jia FX, Hu F, Cong L, Wang JJ, 2011. Transcriptome analysis of the oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*). *PLoS ONE*, 6: e29127.

Simakov O, Marletaz F, Cho SJ, Edsinger-Gonzales E, Havlak P, Hellsten U, Kuo DH, Larsson T, Lv J, Arendt D, Savage R, Osoegawa K, de Jong P, Grimwood J, Chapman JA, Shapiro H, Aerts A, Otillar RP, Terry AY, Boore JL, Grigoriev IV, Lindberg DR, Seaver EC, Weisblat DA, Putnam NH, Rokhsar DS, 2012. Insights into bilaterian evolution from three spiralian genomes. *Nature*, 493: 526 – 531.

Sinha D, Nagaraju J, Tomar A, Bentur J, Nair S, 2012. Pyrosequencing-based transcriptome analysis of the Asian rice gall midge reveals differential response during compatible and incompatible interaction. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 13079 – 13103.

Smith CD, Zimin A, Holt C, Abouheif E, Benton R, Cash E, Croset V, Currie CR, Elhaik E, Elsik CG, Fave MJ, Fernandes V, Gadau J, Gibson JD, Graur D, Grubbs KJ, Hagen DE, Helmkampf M, Holley JA, Hu H, Viniegra ASI, Johnson BR, Johnson RM, Khila A, Kim JW, Laird J, Mathis KA, Moeller JA, Munoz-Torres MC, Murphy MC, Nakamura R, Nigam S, Overson RP, Placek JE, Rajakumar R, Reese JT, Robertson HM, Smith CR, Suarez AV, Suen G, Suhr EL, Tao S, Torres CW, van Wilgenburg E, Viljakainen L, Walden KKO, Wild AL, Yandell M, Yorke JA, Tsutsui ND, 2011. Draft genome of the globally widespread and invasive Argentine ant (*Linepithema humile*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108: 5673 – 5678.

Sparks ME, Gundersen-Rindal DE, 2011. The *Lymantria dispar* IPLB-Ld652Y cell line transcriptome comprises diverse virus-associated transcripts. *Viruses*, 3: 2339 – 2350.

Stout MJ, Thaler JS, Thomma BP, 2006. Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods. *Annual Review of Entomology*, 51: 663 – 689.

Su YL, Li JM, Li M, Luan JB, Ye XD, Wang XW, Liu SS, 2012. Transcriptomic analysis of the salivary glands of an invasive whitefly. *PLoS ONE*, 7: e39303.

Sze SH, Dunham JP, Carey B, Chang PL, Li F, Edman RM, Fjeldsted C, Scott MJ, Nuzhdin SV, Tarone AM, 2012. A *de novo* transcriptome assembly of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) with predicted alternative splices, single nucleotide polymorphisms and transcript expression estimates. *Insect Molecular Biology*, 21: 205 – 221.

Valles SM, Oi DH, Yu FH, Tan XX, Buss EA, 2012. Metatranscriptomics and pyrosequencing facilitate discovery of potential viral natural enemies of the invasive Caribbean crazy ant, *Nylanderia pubens*. *PLoS ONE*, 7: e31828.

Van Belleghem SM, Roelofs D, Van Houdt J, Hendrickx F, 2012. *De novo* transcriptome assembly and SNP discovery in the wing polymorphic salt marsh beetle *Pogonus chalceus* (Coleoptera, Carabidae). *PLoS ONE*, 7: e31828.

Van Orsouw NJ, Hogers RC, Janssen A, Yalcin F, Snoeijers S, Verstege E, Schneiders H, Van Der Poel H, Van Oeveren J, Verstegen H, 2007. Complexity reduction of polymorphic sequences (CRoPS™): a novel approach for large-scale polymorphism discovery in complex genomes. *PLoS ONE*, 2: e1172.

Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B, Kinzler KW, 1995. Serial analysis of gene expression. *Science*, 270: 484 – 486.

Vera JC, Wheat CW, Fescemyer HW, Frilander MJ, Crawford DL, Hanski I, Marden JH, 2008. Rapid transcriptome characterization for a nonmodel organism using 454 pyrosequencing. *Molecular Ecology*, 17: 1636 – 1647.

Vogel H, Altincicek B, Glockner G, Vilcinskas A, 2011. A comprehensive transcriptome and immune-gene repertoire of the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. *BMC Genomics*, 12: 308.

Wang ET, Cody NAL, Jog S, Biancolella M, Wang TT, Treacy DJ, Luo SJ, Schroth GP, Housman DE, Reddy S, Lecuyer E, Burge CB, 2012. Transcriptome-wide regulation of pre-mRNA splicing and mRNA localization by muscleblind proteins. *Cell*, 150: 710 – 724.

Wang X, Kang L, 2014. Molecular mechanisms of phase change in locusts. *Annual Review of Entomology*, 59: 225 – 243.

Wang XW, Luan JB, Li JM, Su YL, Xia J, Liu SS, 2011. Transcriptome analysis and comparison reveal divergence between two invasive whitefly cryptic species. *BMC Genomics*, 12: 458.

Wang Z, Gerstein M, Snyder M, 2009. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, 10: 57 – 63.

Wei Z, Wang W, Hu P, Lyon GJ, Hakonarson H, 2011. SNVer: a statistical tool for variant calling in analysis of pooled or individual next-generation sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 39: e132.

Wolf JB, 2013. Principles of transcriptome analysis and gene expression quantification: an RNA-seq tutorial. *Molecular Ecology Resources*, 13: 559 – 572.

Xia Q, Guo Y, Zhang Z, *et al.*, 2009. Complete resequencing of 40 genomes reveals domestication events and genes in silkworm (*Bombyx*). *Science*, 326: 433 – 436.

Xiang H, Zhu J, Chen Q, Dai F, Li X, Li M, Zhang H, Zhang G, Li D, Dong Y, Zhao L, Lin Y, Cheng D, Yu J, Sun J, Zhou X, Ma K, He Y, Zhao Y, Guo S, Ye M, Guo G, Li Y, Li R, Zhang X, Ma L, Kristiansen K, Guo Q, Jiang J, Beck S, Xia Q, Wang W, Wang J, 2010. Single base-resolution methylome of the silkworm reveals a sparse epigenomic map. *Nature Biotechnology*, 28: 516 – 520.

Xie W, Meng QS, Wu QJ, Wang SL, Yang X, Yang NN, Li RM, Jiao XG, Pan HP, Liu BM, Su Q, Xu BY, Hu SN, Zhou XG, Zhang YJ, 2012. Pyrosequencing the *Bemisia tabaci* transcriptome reveals a highly diverse bacterial community and a robust system for insecticide resistance. *PLoS ONE*, 7: e35181.

Xu Y, Zhou W, Zhou Y, Wu J, Zhou X, 2012. Transcriptome and comparative gene expression analysis of *Sogatella furcifera* (Horvath) in response to southern rice black-streaked dwarf virus. *PLoS ONE*, 7: e36238.

Xue J, Bao YY, Li BL, Cheng YB, Peng ZY, Liu H, Xu HJ, Zhu ZR, Lou YG, Cheng JA, Zhang CX, 2010. Transcriptome analysis of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *PLoS ONE*, 5: e14233.

Xue J, Qiao N, Zhang W, Cheng RL, Zhang XQ, Bao YY, Xu YP, Gu LZ, Han JD, Zhang CX, 2012. Dynamic interactions between *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus and its host cells revealed by transcriptome analysis. *Journal of Virology*, 86: 7345 – 7359.

Yang P, Zhu JY, Gong ZJ, Xu DL, Chen XM, Liu WW, Lin XD, Li YF, 2012. Transcriptome analysis of the Chinese white wax scale *Ericerus pela* with focus on genes involved in wax biosynthesis. *PLoS ONE*, 7: e35719.

Zagrobelny M, Scheibye-Alsing K, Jensen NB, Moller BL, Gorodkin J, Bak S, 2009. 454 pyrosequencing based transcriptome analysis of *Zygaena filipendulae* with focus on genes involved in biosynthesis of cyanogenic glucosides. *BMC Genomics*, 10: 574.

Zhang F, Guo H, Zheng H, Zhou T, Zhou Y, Wang S, Fang R, Qian W, Chen X, 2010. Massively parallel pyrosequencing-based transcriptome analyses of small brown planthopper (*Laodelphax striatellus*), a vector insect transmitting rice stripe virus (RSV). *BMC Genomics*, 11: 303.

Zhang Q, Chen W, Sun L, Zhao F, Huang B, Yang W, Tao Y, Wang J, Yuan Z, Fan G, Xing Z, Han C, Pan H, Zhong X, Shi W, Liang X, Du D, Sun F, Xu Z, Hao R, Lv T, Lv Y, Zheng Z, Sun M, Luo L, Cai M, Gao Y, Wang J, Yin Y, Xu X, Cheng T, Wang J, 2012. The genome of *Prunus mume*. *Nature Communications*, 3: 1318.

Zhang Y, Jiang R, Wu H, Liu P, Xie J, He Y, Pang H, 2012. Next-generation sequencing-based transcriptome analysis of *Cryptolaemus montrouzieri* under insecticide stress reveals resistance-relevant genes in ladybirds. *Genomics*, 100: 35 – 41.

Zhang ZY, Peng ZY, Yi K, Cheng YB, Xia YX, 2012. Identification of representative genes of the central nervous system of the locust, *Locusta migratoria manilensis* by deep sequencing. *Journal of Insect Science*, 12: 86.

Zheng W, Peng T, He W, Zhang H, 2012. High-throughput sequencing to reveal genes involved in reproduction and development in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *PLoS ONE*, 7: e36463.

Zhu F, Gujar H, Gordon JR, Haynes KF, Potter MF, Palli SR, 2013. Bed bugs evolved unique adaptive strategy to resist pyrethroid insecticides. *Scientific Reports*, 3: 1456.

Zhu JY, Yang P, Zhang Z, Wu GX, Yang B, 2013. Transcriptomic immune response of *Tenebrio molitor* pupae to parasitization by *Scleroderma guani*. *PLoS ONE*, 8: e54411.

Zhu JY, Zhao N, Yang B, 2012. Global transcriptome profiling of the pine shoot beetle, *Tomicus yunnanensis* (Coleoptera: Scolytinae). *PLoS ONE*, 7: e32291.

(责任编辑：赵利辉)